

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON
Année scolaire 1903-1904. — N° 128

TRAVAIL DU LABORATOIRE D'HYGIÈNE DE L'UNIVERSITÉ

LES
MILIEUX CAFÉINÉS
EN BACTÉRIOLOGIE

DIFFÉRENCIATION DU BACILLE D'EBERTH ET DU COLI BACILLE

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Et soutenue publiquement le 6 Février 1904

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

Léon LACOMME

Né le 22 Novembre 1877, à Mesvres (Saône-et-Loire),

Ancien Externe des Hôpitaux de Lyon,

Licencié ès sciences,

Préparateur au Laboratoire d'hygiène de l'Université de Lyon.



LYON

A. REY & C^{ie}, IMPRIMEURS-ÉDITEURS DE L'UNIVERSITÉ

—
Février 1904

LES
MILIEUX CAFÉINÉS
EN BACTÉRIOLOGIE

DIFFÉRENCIATION DU BACILLE D'EBERTH ET DU COLI BACILLE

DU MÊME AUTEUR

Sur un procédé de recherche des nitrates dans une solution de nitrite (*Bulletin de la Société médicale des Hôpitaux de Lyon*, 30 avril 1903). En collaboration avec M. A. Morel.

Les microbes de Winogradsky (*Bulletin de la Société médicale des Hôpitaux de Lyon*, 31 juillet 1903).

Recherche des microbes Winogradsky dans un cas d'ostéo malacie sénile (*Bulletin de la Société médicale des Hôpitaux de Lyon*, 31 juillet 1903).

Sur les milieux caféinés pour différencier le bacille d'Eberth du coli bacille (*Bulletin de la Société médicale des Hôpitaux de Lyon*, 8 décembre 1903). En collaboration avec le professeur J. Courmont.

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON
Année scolaire 1903-1904. — N° 128

TRAVAIL DU LABORATOIRE D'HYGIÈNE DE L'UNIVERSITÉ

LES
MILIEUX CAFÉINÉS
EN BACTÉRIOLOGIE

DIFFÉRENCIATION DU BACILLE D'EBERTH ET DU COLI BACILLE

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Et soutenue publiquement le 6 Février 1904

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

Léon LACOMME

Né le 22 Novembre 1877, à Mestres (Saône-et-Loire),

Ancien Externe des Hôpitaux de Lyon,

Licencié ès sciences,

Préparateur au Laboratoire d'hygiène de l'Université de Lyon.



LYON

A. REY & C^{ie}, IMPRIMEURS-ÉDITEURS DE L'UNIVERSITÉ

—
Février 1904

PERSONNEL DE LA FACULTÉ

MM. LORTET. DOYEN.
LACASSAGNE. ASSESSEUR.

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. PAULET, CHAUVÉAU.

PROFESSEURS

Cliniques médicales	{ MM. LÉPINE. BONDET. BARD. PONCET. JABOULAY.
Cliniques chirurgicales	{ X. GAYET GAILLETON. PIERRET. WEILL. MONOYER. HUGOUNENQ. CAZENEUVE. BEAUVISAGE. LORTET. TESTUT. RENAUT. MORAT. TEISSIER. AUGAGNEUR. MAYET. TRIPIER. POLLOSSON (M.). ARLOING. LACASSAGNE. COURMONT (J.). SOULIER. FLORENCE.
Clinique obstétricale et Accouchements.	
Clinique ophtalmologique	
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	
Clinique des maladies mentales	
Clinique des maladies des enfants	
Physique médicale	
Chimie médicale et pharmaceutique	
Chimie organique et Toxicologie	
Matière médicale et Botanique	
Parasitologie	
Anatomie	
Anatomie générale et Histologie	
Physiologie	
Pathologie interne	
Pathologie externe	
Pathologie et Thérapeutique générales	
Anatomie pathologique	
Médecine opératoire.	
Médecine expérimentale et comparée	
Médecine légale	
Hygiène	
Thérapeutique	
Pharmacologie.	

PROFESSEUR ADJOINT

Physiologie, cours complémentaire. M. DOYON.

CHARGÉS DE COURS COMPLÉMENTAIRES

Clinique des maladies des femmes	MM. POLLOSSON (A.), agrégé.
Maladies des voies urinaires	CHANDELUX, —
Maladies des oreilles, du nez et du larynx.	LANNOIS, —
Propédeutique médicale	ROQUE, —
Propédeutique chirurgicale.	ROLLET, —
Propédeutique de gynécologie.	CONDAMIN, —
Anatomie pathologique	DEVIC, —
Accouchements.	FABRE, —
Matière médicale	MOREAU, —
Anatomie topographique	DURAND. —

AGRÉGÉS

MM	MM	MM.	MM.
ROUX.	SIRAUD.	BÉRARD.	VILLARD.
COLLET.	DURAND.	SAMBUC.	TIXIER.
BOYER.	PIC.	BORDIER.	FABRE.
BARRAL.	PAVIOT.	COURMONT (P.).	REGAUD.
MOREAU.	NOVE-JOSSERAND	CHATIN	CAUSSE, ch...
VALLAS.			

M. X., Secrétaire.

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

MM. COURMONT (J.), Président; DOYON, Assesseur ;

MM. ROUX et SIRAUD, Agrégés.

La Faculté de médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.

A la suite d'une note d'un auteur allemand, E. Roth, parue dans le courant de mai 1903 et se rapportant à la différenciation du bacille d'Eberth et du coli bacille par les milieux caféïnés, le professeur J. Courmont nous conseilla d'étudier l'influence de cette substance et des corps voisins sur un certain nombre de microbes.

Grâce à sa collaboration et à ses conseils, nous avons réussi à mener à bien ce travail que nous choisissons aujourd'hui comme thèse inaugurale.

Nous tenons, au début de cette étude, à remercier notre maître et à lui exprimer ici notre reconnaissance pour tout ce qu'il a fait pour nous, en particulier pour nous avoir fait l'honneur de nous choisir comme préparateur et d'accepter la présidence de notre thèse.

Puisque nous en sommes à l'heure si douce des remerciements, qu'il nous soit permis de rendre ici un hommage public à la bonté de M. le professeur agrégé Siraud qui guida nos premiers pas à la Faculté comme à l'hôpital et qui fut pour nous plus qu'un maître : un ami.

Nous n'aurons garde d'oublier nos autres maîtres dans les hôpitaux et à la Faculté. Que M. le professeur Maurice Pollosson, que MM. les professeurs agrégés, chirurgiens des hôpitaux, Durand, Nové-Josserand, Rochet, veuillent bien accepter ici tout l'hommage de notre reconnaissance.

M. le professeur Doyon a bien voulu, dans maintes

circonstances, nous aider de son jugement et de son expérience, il nous a fait de plus l'honneur d'accepter d'être membre de notre jury de thèse, nous le prions d'accepter ici tous nos remerciements.

M. le professeur agrégé Roux a bien voulu faire partie de notre jury de thèse, nous l'en remercions vivement.

Nous n'oublierons pas nos maîtres de la Faculté des sciences, MM. les professeurs Déperet, Dubois, Gérard, Offret, MM. les Maîtres de Conférences Couvreur, Ray, Riche, ont été pour nous des maîtres dévoués. Qu'ils soient persuadés que nous garderons toujours le souvenir de leurs excellentes leçons.

Merçi à nos amis les D^{rs} Bretin et Morel pour l'amabilité avec laquelle ils ont mis à notre disposition leurs connaissances chimiques qui nous ont été d'un grand secours.

M. le D^r Lesieur a guidé nos premiers pas au laboratoire d'hygiène, nous lui témoignons ici toute notre reconnaissance.

Enfin, que tous nos amis qui, pendant nos années d'études, ont pu nous rendre quelques services soient bien persuadés que toujours leur souvenir restera présent à notre mémoire.

L. L.

Février 1904.

LES MILIEUX CAFÉINÉS EN BACTÉRIOLOGIE

DIFFÉRENCIATION DU BACILLE D'EBERTH ET DU COLI BACILLE

HISTORIQUE

Au début de leur histoire, bacille d'Eberth et coli bacille étaient facilement différenciés l'un de l'autre, trop facilement peut-être si l'on en juge par les résultats contradictoires obtenus par les bactériologistes qui se livraient à la recherche de l'un ou l'autre de ces deux microorganismes.

Ceux-ci, en effet, se basaient surtout et même uniquement sur les caractères de ces deux microbes cultivés sur pomme de terre et gélatine.

Suivant qu'ils se trouvaient en présence d'une culture en « *bave d'escargot* », d'une « *montagne de glace* », ou d'une culture en « *purée de pois* », de *grosses colonies jaunes et opaques*, ils concluaient en faveur du bacille d'Eberth ou du *Bacillus coli communis*.

Ces seuls caractères différentiels eurent pour résultat de faire considérer comme typhogènes des eaux ne

contenant pas de bacilles d'Eberth, mais seulement du coli bacille. D'autres eaux, au contraire, considérées comme inoffensives, pullulaient de bacilles d'Eberth : on n'y avait trouvé que du coli bacille.

Ces deux microbes considérés pendant plusieurs années comme très différents, furent tout à coup, en 1889, non pas identifiés, mais peu s'en faut, par MM. Rodet et Gabriel Roux de Lyon. Nous ne saurions mieux faire, à cette occasion, que de citer un passage de leurs publications sur ce sujet. « Les nouvelles constatations, « aussi nombreuses qu'intéressantes, touchant la bio- « logie et la morphologie du bacille d'Eberth et du « bacille d'Escherich, ne font que nous raffermir davan- « tage dans l'opinion que ces deux microorganismes « constituent, non deux *espèces*, mais deux *variétés* ou « *races* différentes, et que la forme *coli*, joue *telle* « *quelle*, un rôle important dans la genèse et la patho- « génie de la fièvre typhoïde, rôle dont la détermina- « tion n'est pas encore définitive. »

Nous ne croyons pas devoir ici discuter la valeur des affirmations de MM. Rodet et Gabriel Roux, qui sont fort exagérées. Le but de ce travail est tout autre. Nous devons cependant nous féliciter de la conséquence toute naturelle qui résulta du travail des deux auteurs lyonnais. De nombreux chercheurs, dans l'un et l'autre camp, cherchèrent avec insistance les moyens de différencier d'une façon certaine le coli bacille du bacille d'Eberth.

C'est alors que l'on assista à l'éclosion des nombreux milieux destinés à différencier le bacille d'Eberth et le coli bacille. Nous citerons pour mémoire les milieux de

Elsner, Pierkowsky, Chantemesse, Hune ; les milieux tournesolés-lactosés, le lait, l'artichaut, le neutral-roth, les bougies filtrantes de Cambier ... etc ,.. etc.

Quel que soit le procédé employé, quel que soit le milieu dont on fait usage, on ne peut avoir la certitude de s'être débarrassé du coli bacille pour mettre en évidence le bacille d'Eberth, surtout lorsque l'on emploie les milieux antiseptiques qui empêchent au contraire la végétation de ce dernier sans nuire à celle du coli bacille.

On sait en effet que le coli bacille est beaucoup plus résistant que le bacille d'Eberth et toujours lorsqu'on a voulu séparer ces deux microorganismes après les avoir isolés des autres microbes, c'est toujours le coli qui reste, tandis que le bacille d'Eberth est détruit.

Il restait à trouver un procédé qui permît au contraire de faire disparaître le coli bacille tout en respectant le bacille d'Eberth.

Aussi, grande fut la surprise, lorsque le 15 mai 1903 paraissait sous le nom de E. Roth¹, un travail du laboratoire du professeur Rubner annonçant qu'une substance était trouvée qui *empêchait le développement du coli bacille tout en ne nuisant en rien à celui du bacille d'Eberth* : cette substance était la caféine.

L'importance du court mémoire Roth est si considérable que nous en donnons ci-après une traduction presque *in extenso*.

RECHERCHES SUR L'ACTION DE LA CAFÉINE SUR LE BACILLE

¹ E. Roth, Versuche über die Einwirkung des Caffeins auf das Bacterium typhi und coli (*Hygienische Rundschau*, 15 mai 1903.)

TYPHIQUE ET LE COLI BACILE. — « La plupart des recherches faites sur l'étiologie de la fièvre typhoïde et « l'isolement de l'agent pathogène donnent lieu à de « grandes difficultés tant au point de vue de la qualité « que de la quantité de cet agent. On a reconnu qu'il « existait un défaut de technique ; aussi on a proposé « des milieux électifs dont le grand nombre indique « suffisamment l'inefficacité.

« Dans le cours des recherches sur l'action des « alcaloïdes sur les bactéries, les expériences de Rubner ont mis en évidence l'action de la caféine et ont « montré que des plaques d'agar ordinaire neutre « additionnées de 70 à 80 pour 100 d'une solution « stérilisée de caféine à 1 pour 100 ensemencées avec « du bacille typhique et du bacille coli ne laissaient « végéter que le bacille d'Eberth, tandis que le coli « bacille ne donnait naissance à aucune colonie. Des « recherches faites avec d'autres échantillons de bacilles « d'Eberth ont donné les mêmes résultats, ou peu « s'en faut. On doit cependant admettre que les limites entre lesquelles le bacille d'Eberth pousse et le « coli bacille ne pousse pas sont assez restreintes.

« Cette propriété de la caféine : laisser pousser le « bacille d'Eberth, et nuire au développement du coli « bacille, faisait de ce procédé un excellent moyen de « différenciation des deux microorganismes. On peut « donc, par ce procédé, empêcher la croissance néfaste « du coli bacille dans les analyses d'eau, de matières « fécales. *A priori*, ce fait de la seule végétation du « coli paraît extraordinaire.

« L'expérience montre que, outre l'Eberth, d'autres

« microbes pouvaient se développer sur l'agar caféiné.

« La gélatine aurait bien remédié d'une façon parfaite à cet inconvénient si, par d'autres points, elle n'avait été reconnue impropre.

« Je cherchai à remédier à cet inconvénient par l'emploi de bouillon de viande. A un bouillon dont l'alcalinité a été soigneusement vérifiée, on ajoute une certaine quantité d'une solution stérilisée de caféine à 1 pour 100 et on ensemence du bacille d'Eberth et du coli bacille. Après quinze à vingt heures de séjour à l'étuve à 37 degrés, le bacille d'Eberth pousse abondamment, tandis que le coli bacille n'a donné naissance à aucune culture.

« Ceci fait, on prépare des plaques de gélatine que l'on ensemence avec les cultures obtenues en bouillon caféiné. Alors le bacille d'Eberth se développe sur ces plaques de gélatine en présentant des colonies typiques, c'est-à-dire en feuilles de vigne. Cet aspect particulier les différencie très nettement des germes qui pourraient y ressembler.

« De l'exposition des faits ci-dessus énoncés résulte donc la possibilité de différencier le bacille d'Eberth, ce qui, jusqu'à présent, était impossible par suite de l'impossibilité d'empêcher la croissance du coli. Naturellement, dans une recherche de bacille d'Eberth dans une eau suspecte, après quinze ou vingt heures de séjour à l'étuve à 37 degrés, il y a encore dans les cultures un assez grand nombre de germes autres que le bacille d'Eberth, mais qui sont facilement éliminables.

« Conclusions :

« 1° *On réussit par addition d'une certaine quantité de caféine à des milieux de cultures déterminés à empêcher complètement la croissance et même la possibilité de vivre du coli bacille pendant que le bacille d'Eberth n'est pas ou peu influencé.*

« 2° *En employant ce procédé, on arrive à posséder une culture riche.* »

L'auteur allemand, dont nous venons de reproduire le travail, est très affirmatif en ce qui concerne les résultats ; le procédé qu'il indique pour éliminer le coli bacille serait d'une simplicité telle, qu'aucun autre ne peut l'égaliser et serait, d'après lui, absolu quant à ses résultats. Ces affirmations, disons-le dès maintenant, nous paraissent un peu exagérées ; nous le démontrerons dans le cours de cette étude. Néanmoins, l'auteur a lancé les recherches dans une voie nouvelle, en montrant qu'une substance peut être néfaste au coli bacille sans influencer le bacille d'Eberth et, pour cela, mérite les plus grands éloges.

Nos premières recherches ont déjà été publiées il y a quelque temps ¹.

¹ J. Courmont et L. Lacomme : Sur les milieux caféinés, pour différencier le bacille d'Eberth du coli bacille. (*Société Médicale des Hôpitaux de Lyon*, 8 décembre 1903).

CHAPITRE PREMIER

APERÇU SUR LA CAFÉINE ET LES CORPS VOISINS AU POINT DE VUE CHIMIQUE

Nous allons essayer dans ce chapitre de donner un aperçu chimique de la caféine et des corps voisins. Nous n'avons pu, dans le cours de ce travail, étudier l'influence de la théobromine et de l'acide urique sur les cultures microbiennes, comme nous l'avons fait pour la caféine. Malgré cela, nous croyons utile, avant d'entrer dans le cœur de notre sujet, de placer la caféine à sa place au milieu des corps dont elle dérive ou auxquels elle peut donner naissance.

La caféine, théine ou guaranine, a été trouvée en 1820 dans le café par Runge, puis par Robiquet et Boutron; en 1887, Oudry la mit en évidence dans le thé et lui donna alors le nom de théine; en 1840, Marius la rencontre dans la guarana (*Paullinia sorbilis*), Berthemot et Dechastelus confirmèrent dans la suite la découverte de Marius.

En 1847, le *thé du Paraguay*, fourni par un ilex, fut reconnu comme contenant également de la caféine.

Des études plus récentes ne firent que confirmer les recherches plus anciennes et firent également signaler la présence de la caféine dans des plantes qu'avaient

négligées les auteurs anciens. C'est ainsi qu'Attfield l'a trouvée dans la noix de cola (cotylédons de la graine de *Cola acuminata*) où Petit et, plus tard, Schlagdenhauffen l'ont également rencontrée.

D'une façon générale, on trouve chez presque tous les peuples l'usage d'une boisson à base de feuilles ou graines contenant de la caféine.

Analysée presque aussitôt sa découverte, en 1832 par Dumas et Pelletier, la caféine ne fut exactement connue au point de vue de sa composition que beaucoup plus tard, en 1832. L'honneur de cette découverte revient à Pfaff et Liebig.

PRÉPARATION

La caféine s'obtient par des procédés très nombreux et qui, naturellement, varient avec la substance dont on la retire. Sans vouloir insister outre mesure sur la préparation de la caféine, nous indiquerons néanmoins les principaux procédés.

I. Procédé Robiquet et Boutron.

Le café est épuisé par l'eau bouillante, d'où solution de :

Caféine + malates acides + acide malique en petite quantité.

On ajoute du sous-acétate de plomb qui précipite les malates et l'acide malique. On filtre, on enlève l'excès de plomb par un courant d'hydrogène sulfuré. On filtre à nouveau et on évapore lentement : la caféine cristallise.

II. Procédé Versmann

Un mélange intime de 10 parties de café finement pulvérisé et de deux parties de chaux éteinte est soumis à la lixiviation à l'aide d'alcool à 80 degrés.

On distille la liqueur pour enlever l'alcool, l'extrait est repris par de l'eau un peu alcoolisée ; on filtre, on évapore et on distille jusqu'au moment où apparaît une couche huileuse qui surnage au dessus du liquide non distillé.

On sépare cette couche huileuse et on évapore la partie aqueuse pour la concentrer.

On laisse refroidir et la caféine cristallise.

Ces cristaux impurs sont séparés, exprimés entre des doubles de papier et repris par l'eau bouillante en présence du noir animal. On filtre à chaud cette solution aqueuse qui, par refroidissement, laisse se séparer les cristaux de caféine.

III. Procédé Vogel.

On épuise la poudre de café par la benzine et on distille la liqueur ; le résidu est formé de caféine et d'une matière grasse.

Il suffit de reprendre par l'eau qui ne dissout que la caféine et l'abandonne par refroidissement.

On peut purifier comme plus haut.

IV. Procédé Payen

La poudre de café est traitée par de l'éther qui enlève la matière grasse, puis par l'alcool à 60 degrés ; la solution alcoolique de caféine ainsi obtenue est éva-

porée jusqu'à consistance sirupeuse; on reprend le résidu par deux ou trois volumes d'alcool à 85 degrés. Il se forme deux couches : la supérieure renferme la caféine. On évapore cette couche à consistance semi-extractive et on l'additionne de son volume d'alcool à 90 degrés. Il se dépose des cristaux d'un sel double de caféine et de potassium d'où par sublimation on isole la caféine.

V. Procédé Legrip et Petit.

Le thé pulvérisé est additionné de deux fois son poids d'eau bouillante; après quelques instants de macération on place la poudre humide dans un appareil à lixiviation et on épuise par le chloroforme tant que le liquide passe coloré. (Si on opérât avec le chloroforme sur la poudre sèche, il n'y aurait pas dissolution de la caféine; il faut la préalable action de l'eau qui retient le tannin.)

Les liqueurs chloroformiques réunies sont distillées et le résidu obtenu est formé de substances extractives colorées, de matières grasses et de caféine.

On purifie en reprenant par l'eau bouillante en présence du noir animal.

VI. Procédé Cazeneuve.

On épuise par quatre parties d'eau bouillante, une partie de thé, on ajoute une partie de chaux éteinte, on évapore au bain-marie et on reprend le résidu par le chloroforme; la solution chloroformique distillée abandonne comme résidu la caféine qu'on purifie.

VII. Procédé Grosschopf.

Il sert à préparer la caféine en grandes quantités. On traite le thé par l'eau chaude ; la liqueur est additionnée de litharge. On évapore jusqu'à consistance sirupeuse, puis on additionne de potasse et d'alcool.

On évapore la solution alcoolique et on fait cristalliser la caféine en reprenant par la benzine.

Tous ces procédés plus ou moins modifiés sont applicables au guarana et au thé du Paraguay en particulier le premier (procédé Robiquet et Boultron).

PROPRIÉTÉS PHYSIQUES

La caféine est un corps qui cristallise en longues et belles aiguilles, brillantes, soyeuses et légères, du type hexagonal.

Ces cristaux, réunis en masse et d'aspect feutré, contiennent 1 molécule d'eau de cristallisation (8,4 o/o) qu'ils ne perdent qu'assez difficilement, complètement dès 100 degrés, d'après certains, incomplètement, à 150 degrés, d'après d'autres.

On l'obtient anhydre, par cristallisation dans l'alcool ou l'éther.

Ce corps de saveur amère, de densité égale à 1,23 à 19 degrés, fond vers 230 degrés, mais commence à se sublimer dès 185 degrés. Il bout à 284 degrés et se sublime alors sans altération.

On a donné divers chiffres de solubilité, on peut dire qu'en chiffres ronds :

1 partie se dissout dans 93 parties d'eau froide,

1 partie se dissout dans 2 parties d'eau bouillante,
1 partie se dissout dans 35 parties d'alcool à 90 degrés,
1 partie se dissout dans 300 parties d'éther, 1 partie
se dissout dans 9 parties de chloroforme.

PROPRIÉTÉS CHIMIQUES ET CONSTITUTION

Formule brute $C^8H^{10}Az^4O^4$.

De réaction facilement alcaline, elle sature bien les acides en donnant des sels peu stables. Cependant les solutions salines ne sont pas précipitées par les alcalis, car la caféine est plus soluble dans les alcalis étendus, que dans l'eau pure.

Payen et Personne ont montré qu'elle donnait de la méthylamine quand on la chauffait avec un acide organique pouvant lui céder de l'hydrogène.

Würtz a montré qu'il en était de même quand on la faisait bouillir avec une solution de potasse caustique.

Elle partage cette propriété avec la plupart des alcaloïdes qui, presque tous, réagissent de même dans ces conditions.

Elle donne, ainsi que la théobromine, la réaction suivante :

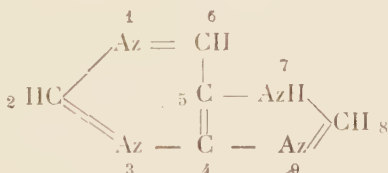
Si l'on traite par de l'acide azotique concentré, puis qu'on évapore très lentement et à siccité, on a un résidu jaune (d'acide amalique) que l'addition d'ammoniaque colore en rouge pourpre.

Avec de l'eau chlorée, au lieu d'acide azotique concentré, la réaction est analogue.

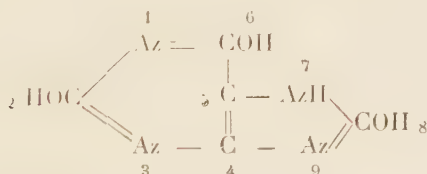
Il existe entre la caféine et la théobromine, qu'on

extrait du cacao, des relations étroites : on peut, comme nous le verrons, passer de la deuxième à la première, or, la théotromine ayant été obtenue par synthèse, il en résulte que l'on possède des notions très précises sur la constitution chimique de ces corps. La caféine appartient au groupe chimique de polyuréides puriques qui renferme des corps en apparence fort disparates : acide urique, xanthine, hypoxanthine, théobromine, théophylline, caféine. Il appartient à Emil Fischer d'avoir montré l'homogénéité de ce groupe en les rattachant à un noyau commun celui de la purine.

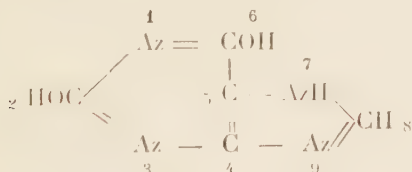
E. Fischer représente la purine par le schéma suivant :



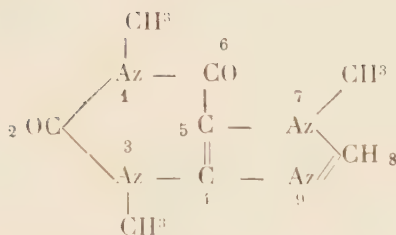
Dans cette nomenclature l'acide urique devient la trioxypurine 2 . 6 . 8.



La xanthine est la dioxypurine 2 . 6.



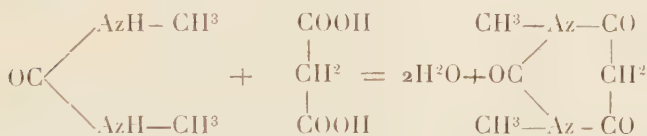
La caféine ou triméthylxanthine devient la triméthyl 1 . 3 . 7. dioxypurine 2 . 6.



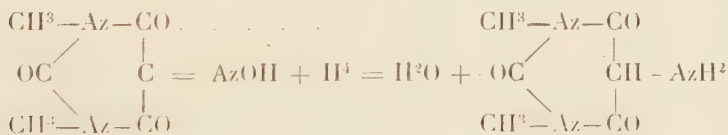
E. Fischer a du reste effectué quatre synthèses de la caféine qui ne font que confirmer celle que nous avons citée.

Enfin, on peut mentionner une synthèse réalisée à partir des éléments.

On prépare tout d'abord l'acide diméthylbarbiturique en condensant l'acide malonique avec la diméthylurée.



Ce corps, traité par l'acide nitreux, donne une oxime qui, sous l'influence de H naissant se transforme en diméthyluramile.



Cet uramile se condense avec l'acide cyanique pour donner l'acide diméthylurique 1 . 3 dont Fischer est parti pour faire la théophylline et la caféine.

CHAPITRE II

TECHNIQUE

Le fait énoncé par Roth nous paraissant intéressant, nous avons cherché à le vérifier ; pour cela, nous nous sommes servi de quatre échantillons : un de colibacilles le coli R^2 et trois de bacilles d'Eberth : les Eberth *Bas...* ; *Bon...* ; *Cos...* ; dont on trouvera l'origine et l'histoire dans un des chapitres suivants.

Le milieu que nous avons employé pour cette première vérification est le milieu solide dont M. E. Roth donne la composition dans son mémoire ; nous la reproduisons ici :

Agar ordinaire neutre	20
Solution de caféine à 1 o/o.	80

Ce milieu ainsi composé était réparti en tubes comme la gélose ordinaire et prêt à êtreensemencé en stries.

Nous avons également préparé, pour servir de témoins, un certain nombre de tubes contenant un milieu semblable à celui décrit ci-dessus avec cette seule différence toutefois, que la solution de caféine à 1 pour 100 était remplacée par de l'eau pure. La composition du milieu ainsi modifié était donc :

Agar ordinaire neutre	20
Eau	80

TABLEAU I

ÉCHANTILLONS		9 Juillet 1903		10 Juillet 1903		11 Juillet 1903		12 Juillet 1903		13 Juillet 1903		20 Juillet 1903		31 Juillet 1903		13 Août 1903	
		Agar peptone glucose	Agar non catalase	—	A. V. C.	—	A. V. C.	—	A. V. C.	—	A. V. C.	—	A. V. C.	—	A. V. C.	—	A. V. C.
Eberth Bas...	Tube 1	—	—	—	±	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+
	Tube 2	Id.	Id.	—	±	+	+	+	+	+	+	—	+	—	+	—	+
Eberth Bon...	Tube 1	Id.	Id.	—	±	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+
	Tube 2	Id.	Id.	—	±	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+
Eberth Cos...	Tube 1	Id.	Id.	—	±	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+
	Tube 2	Id.	Id.	—	±	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+
Coli R ²	Tube 1	Id.	Id.	—	±	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+
	Tube 2	Id.	Id.	—	±	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+

+ ou + signifie culture positive abondante

± signifie culture positive légère

— ou — signifie culture négative

Ces deux milieux ainsi composés étaient, bien entendu, stérilisés pendant vingt minutes à 120 degrés comme les milieux ordinaires utilisés en bactériologie.

Nous avons alorsensemencé deux tubes d'agar caféiné et deux tubes d'agar non caféiné avec chacun des quatre échantillons ci-dessus mentionnés.

Les résultats, disons-le dès maintenant, ont été en concordance absolue avec le fait énoncé par E. Roth. Le tableau suivant donne d'ailleurs le détail des expériences et leurs résultats.

Si ce résultat paraît concluant au point de vue du fait en lui-même, le choix du milieu ne paraît pas excellent, puisque le temps nécessaire à la végétation du bacille d'Eberth, n'est pas inférieur à *quarante-huit heures*.

Rejetant alors ce milieu par suite de son trop peu de sensibilité et ne pouvant employer le milieu liquide de E. Roth, puisque cet auteur néglige d'en donner la composition, nous avons cherché par tâtonnements successifs à composer un milieu permettant au bacille d'Eberth de se développer au bout de *vingt-quatre heures* et empêchant au coli bacille de s'y développer jamais ou tout au moins pas avant une huitaine de jours.

Nous n'entrerons pas dans le détail de toutes les expériences faites : nous nous bornerons à les résumer dans un tableau.

Ces expériences, comme les précédentes, ont porté sur les bacilles d'Eberth *Bas...* ; *Bon...* ; *Cos...* ; et le coli bacille *H²*.

Chaque fois que nous avonsensemencé un milieu caféiné, nous avons égalementensemencé un milieu

témoin, ne différant du premier que par l'absence de caféine.

Pour ne pas surcharger notre tableau et le rendre plus lisible, nous n'avons pas porté les résultats donnés par les ballons témoins. Nous ferons remarquer en passant que tous étaient troubles après un séjour de vingt-quatre heures à l'étuve.

Une rapide inspection du tableau précédent montre que seul un des milieux essayé répond aux *desiderata* que nous nous étions posés, c'était par conséquent le seul que nous devons employer dans la suite de nos expériences. C'est ce que nous avons fait et lorsque, sans plus de détail, nous parlerons de *bouillon caféiné*, c'est à ce milieu que nous ferons allusion.

Ce milieu, il est facile de s'en rendre compte, est celui indiqué au bas du tableau et répond à la composition :

Bouillon ordinaire	35
Eau	65
Caféine	1

Le mélange fait, celui-ci était stérilisé à 120 degrés.

TABEAU II

	EVERTH Bas...					EVERTH Bouill...					EVERTH Cos...					Coli R ²				
	1 ^{er} Jour	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
Bouillon ordin. 58																				
Eau . . . 42	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+
Caféine . . 0.80																—	+	±	+	+
Bouillon ordin. 34																				
Eau . . . 66	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	±	±	+	+
Caféine . . 0.75																—	+	±	+	+
Bouillon ordin. 36																				
Eau . . . 64	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±	+	+	+
Caféine . . 0.64																±	+	+	+	+
Bouillon ordin. 20																				
Eau . . . 80	—	+	+	+	+	—	+	+	+	+	—	+	+	+	+	—	—	—	—	—
Caféine . . 0.80																—	—	—	—	—
Bouillon ordin. 35																				
Eau . . . 65	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Caféine . . 1																—			—	

— ou + signifie culture positive abondante
 ± — — — légère.
 — ou — — — négative.

CHAPITRE III

INFLUENCE DE LA CAFÉINE SUR LES CULTURES PURES DE BACILLE D'EBERTH ET DE COLI BACILLE

D'après les résultats indiqués par le tableau du précédent chapitre, on était en droit d'espérer une confirmation absolue du fait énoncé par E. Roth ; on verra par la suite qu'il n'en est rien.

Nous ne pouvions, pour une démonstration réellement scientifique, nous borner à l'étude de ces quatre seuls échantillons. On sait en effet que bacilles d'Eberth et coli bacilles ne forment pas deux espèces homogènes de microorganismes mais que, dans chacun de ces groupes, il y a des échantillons un peu aberrants qui parfois s'éloignent assez du type.

En d'autres termes, tous les bacilles d'Eberth et tous les coli bacilles ne sont pas identiques entre eux comme le sont au contraire tous les bacilles tétaniques par exemple.

Nous avons donc étendu le cadre de nos recherches et nous avons expérimenté sur *onze* échantillons de bacilles d'Eberth et sur *neuf* échantillons de coli bacilles.

Avant d'entrer dans le détail de nos expériences et de nos résultats, nous donnerons en quelques mots l'origine et l'histoire de nos divers échantillons.

A. ORIGINE DE NOS BACILLES

I. BACILLES D'EBERTH

I. Eberth Bas...;

Histoire clinique très résumée. — Bas...; homme de trente ans. Entre au 7^e jour de la maladie.

Céphalalgie, diarrhée, légère douleur abdominale à droite, abattement progressif, anorexie. Taches rosées.

Ni sucre, ni albumine.

Séro-réaction au 8^e jour, complète à 1/10, incomplète en 1 h. 1/2 à 1/30.

Recherches bactériologiques.

Au 3^e jour. Ensemencement de 3 centimètres cubes de sang en bouillon.

Après 22 heures, léger trouble; au microscope??

Après 48 heures, trouble intense; au microscope, bacilles mobiles, ne prenant pas le Gram.

Culture en bouillon lactosé tournesolé; lait, gélatine, montre que ce sont des bacilles d'Eberth.

La culture est agglutinée à 1/100.

II. Eberth Bon...;

Histoire clinique. Observation manquée. Séro-réaction positive à 1/30.

Recherches bactériologiques.

Au 10^e jour. Ensemencement de 3 centimètres cubes de sang en bouillon ordinaire.

Après 48 heures, cultures de bacilles mobiles ne prenant pas le Gram.

Les cultures en bouillon lactosé tournesolé, lait et gélatine, montrent que ce sont des bacilles d'Eberth.

La culture est agglutinée à 1/30.

III. Eberth Cos...;

Histoire clinique. Observation manquée.

Séro-réaction au 10^e jour, positive à 1/2000, négative à 1/3000.
Recherches bactériologiques.

Au 10^e jour, ensemencement de 1 cc. 1/2 de sang en bouillon ordinaire.

Après 24 heures, léger trouble, quelques bacilles mobiles la plupart en petits agglutinats.

Après 3 jours : culture très abondante, bacilles peu mobiles ne prenant pas le Gram.

Les cultures en bouillon lactosé tournesolé, lait et gélatine, montrent que ce sont des bacilles d'Eberth.

La culture est agglutinée à 1/50.

IV et V. Eberth Dum...;

Histoire clinique très résumée, Dum., homme de trente ans. Entre au 8^e jour de la maladie.

Albuminurie intense dès le début. Phénomènes méningés. Pas de taches rosées. Abdomen un peu ballonné, non douloureux. Meurt vers la 5^e semaine.

Séro-réaction au 9^e jour de la maladie, négative même à 1/10.

Séro-réaction au 25^e jour de la maladie, négative même à 1/10.

Recherches bactériologiques.

Au 8^e jour. Ensemencement de 3 centimètres cubes de sang dans 250 centimètres cubes de milieu de Cambier.

On obtient après 48 heures une culture de bacilles mobiles ne prenant pas le Gram et que les cultures en bouillon lactosé-tournesolé, lait et gélatine montrent être des bacilles d'Eberth. Cette culture désignée dans la suite sous le nom de *Eberth Dum... S...*

Une culture pure de bacille d'Eberth a été également isolée des urines par M. Lesieur, celle-ci est désignée *Eberth Dum .. U...*

VI et VII. Eberth Mar...;

Histoire clinique très résumée. — Mar..., jeune homme de seize ans, entre au 8^e jour de sa maladie. Céphalalgie, douleurs

abdominales, constipation; léger délire, quelques taches rosées.

Au 8^e jour, séro-réaction, négative même à 1/10.

Recherches bactériologiques : 1^{re} prise de sang, au 8^e jour de la maladie : α le sérum n'agglutine pas ; β 2 cc. 1/2 de sang dans 250 centimètres cubes de bouillon ne poussent pas. (Réensemencement le 25 août = 0.)

2^e Prise de sang au 14^e jour de la maladie. 18 août 1903. 4 centimètres cubesensemencés dans 250 centimètres cubes du milieu de Cambier.

Au bout de 48 heures les résultats semblent douteux ; au microscope on voit cependant des bacilles mais agglutinés : on réensemence en bouillon ordinaire le 21 août 1903. Le sérum agglutine à 1/10.

24 août 1903. Examen de la culture fille.

Celle-ci pullule de bacilles mobiles dont quelques-uns très courts et se décolorant tous par le Gram.

Cette culture ensemencée en :

Bouillon tournesolé	Eberth
Lait	—
Gélatine.	—

A la 8^e génération cet échantillon est agglutiné par du sérum de chien préparé, à 1/500 très fortement, à 1/750 faiblement.

Cet échantillon sera désigné dans la suite sous le nom de *Eberth Mar... S...*

Une culture pure de bacilles d'Eberth a été isolée des urines par M. Lesieur, elle sera désignée sous le nom de *Eberth Mar... U...*

VIII et IX. Eberth Mas .. ;

Histoire clinique très résumée. Mas.. ; jeune homme de vingt-six ans, entre au 8^e jour de sa maladie. Céphalalgie violente, prostration, hyperthermie, légères douleurs abdominales, taches rosées.

Au 14^e jour la séro-réaction est complète à 1/50.

Recherches bactériologiques. Au 14^e jour, ensemencement

de 3 centimètres cubes de sang dans 300 centimètres cubes de milieu de Cambier. Après 48 heures on a une culture pure de bacilles mobiles ne prenant pas le Gram et les cultures en bouillon lactosé-tournesolé, lait et gélatine, font voir qu'il s'agit de bacilles d'Eberth.

Cet échantillon est désigné sous le nom de *Eberth Mas... S...*

Un autre échantillon a été isolé des urines par M. Lesieur et est désigné sous le nom de *Eberth Mas .. U...*

X. Eberth Labo. ;

Cet échantillon est un Eberth depuis plusieurs années en laboratoire et servant dans le laboratoire du professeur Arloing à faire la séro-réaction pour le service bactériologique des hôpitaux.

XI. Eberth E. S.

Autre échantillon de laboratoire dû à l'obligeance de M. Mahaut.

II. COLI BACILLES

I. Coli R².

Echantillon de laboratoire (M. Rodet).

II. Coli R.

Echantillon de laboratoire (M. Rodet).

III. Coli N.

Echantillon de laboratoire isolé, il y a plusieurs années, pendant le cours d'une néphrectomie.

IV. Coli 1.

Coli provenant de matières fécales d'une enfant atteinte d'ostéo-arthrite tuberculeuse du genou (service de M. Nové-Josserand).

V. Coli 2.

Coli provenant de matières fécales d'une enfant atteinte d'une ostéo-arthrite tuberculeuse de la hanche (service de M. Nové-Josserand).

VI. Coli 3.

Coli provenant de matières fécales d'une enfant atteinte d'ostéo-arthrite tuberculeuse du coude (service de M. Nové-Josserand).

VII. Coli 4.

Coli provenant de matières fécales d'une enfant atteinte d'ostéo-arthrite tuberculeuse du genou (service de M. Nové-Josserand).

VIII. Coli Lé...

Coli provenant de matières fécales d'un homme normal de vingt-six ans.

IX. Coli Ma...

Coli provenant de matières fécales d'un homme normal de vingt-deux ans.

Les coli bacilles ont été isolés des matières fécales en ensemençant celles-ci en bougie de Cambier et en réenseménant en bouillon le liquide extérieur à la bougie dès le premier louche.

Tels sont les coli bacilles et les bacilles d'Eberth qui ont servi à nos expériences.

B. NOS RÉSULTATS

Nous avons résumé dans deux tableaux les résultats que nous avons obtenus. Le premier des tableaux indique les résultats obtenus avec les coli bacilles ; le second, ceux obtenus avec les bacilles d'Eberth.

Dans ces tableaux, comme dans les précédents, nous négligeons de mentionner les résultats obtenus avec les ballons de bouillon ordinaire, dilué dans la proportion indiquée plus haut, ceux-ci ont toujours été troubles au bout de vingt-quatre heures au maximum.

TABLEAU III. — COLI BACILLE

	R ² Laboratoire	R Laboratoire	N Laboratoire	Coli 1 Artér. tub.	Coli 2 Artér. tub.	Coli 3 Artér. tub.	Coli 4 Artér. tub.	Coli 1 é. Homme normal	Coli Ma. Homme normal
Début de l'expérience	Ensemement	Ensemement	Ensemement	Ensemement	Ensemement	Ensemement	Ensemement	Ensemement	Ensemement
24 heures	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2 jours	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 jours	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4 jours	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 jours	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6 jours	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7 jours	—	—	—	—	—	—	—	—	—
8 jours	—	—	—	—	—	—	—	—	—

— signifie culture négative.

TABEAU IV : BACILLE D'ÉBERTH

	E. S. Labora- toire	Bac... Sang de typhique	Bon... Sang de typhique	Cos... Sang de typhique	Dum U. Urines de typhique	Mar.. U. Urines de typhique	Mas.. U. Urines de typhique	Labo... Labora- toire	Dum...S. Sang de typhique	Mar...S. Sang de typhique	Mas.. S. Sang de typhique
	Ensem ^t	Ensem ^t	Ensem ^t	Ensem ^t	Ensem ^t	Ensem ^t	Ensem ^t	Ensem ^t	Ensem ^t	Ensem ^t	Ensem ^t
Début de l'expérience											
24 heures	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—
2 jours	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—
3 jours	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—
4 jours	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—
5 jours	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—
6 jours	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—
7 jours	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—
8 jours	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—

— signifie culture positive abondante

— signifie culture négative.

La simple inspection des tableaux III et IV montre que les conclusions de Roth sont vraies en ce qui concerne le coli, mais qu'elles sont trop absolues pour ce qui se rapporte à l'Eberth.

Il est évidemment curieux de voir sur 11 échantillons de bacille d'Eberth, 7 de ceux-ci pousser en présence de la caféine et 4 refuser, au contraire, de donner la moindre végétation.

Quelle peut être la cause de cette manière d'être différente? Y a-t-il un rapport entre la possibilité de véger en présence de la caféine et l'accoutumance aux milieux nutritifs ordinaires? Autrement dit, faut-il qu'un bacille d'Eberth, pour n'être pas annihilé par la caféine, soit extrait depuis longtemps de l'organisme et ait vécu pendant de nombreuses générations dans les milieux ordinaires de cultures? Y a-t-il un rapport entre cette propriété et l'agglutinabilité de la culture? Tels sont les deux points que nous avons essayé d'éclaircir.

En ce qui concerne la première hypothèse : *de la nécessité d'une certaine accoutumance aux milieux ordinaires*, nous avons supposé qu'elle n'avait pas beaucoup de chances d'être vérifiée, attendu que le plus ancien de nos échantillons (l'*Eberth Labo.*) depuis plusieurs années en laboratoire, ne pousse pas en milieu caféiné et que, d'autre part, de jeunes Eberth (*Dum...*, *U.*; *Mar...* *U...*; *Mas...* *U.*;) à la troisième génération, troublaient le milieu caféiné en vingt-quatre heures.

Malgré cette probabilité contraire à cette hypothèse, nous avons voulu faire la contre-épreuve et vieillir des

Eberth jeunes ne végétant pas en milieu caféiné, pour voir si en vieillissant ils acquéraient la faculté de croître en présence de la caféine.

Pour cela, nous avons pris les Eberth *Dum... S.*, et *Mar... S.*, que nous avonsensemencés deux fois par jour (matin et soir) en partant de la *huitième* génération jusqu'à la *cinquantième*. Pas plus à la cinquantième qu'à la huitième, ces deux échantillons de bacilles d'Eberth n'ont poussé en présence de la caféine.

Les faits que nous venons d'exposer nous permettent, croyons-nous, d'affirmer que l'accoutumance aux milieux artificiels de culture n'a aucune importance pour faire pousser ou non un Eberth en milieu caféiné.

L'agglutinabilité a-t-elle un rapport avec la faculté de végéter en milieu caféiné. Un simple coup d'œil sur le tableau ci-dessous permet de voir qu'il n'en est rien.

Nous venons de voir que ni le pouvoir d'être agglutiné, ni l'accoutumance aux milieux artificiels de cultures, n'ont de rapport avec la possibilité de végétation en caféine. Que conclure de ces faits ?

Il nous paraît logique de conclure en présence des résultats obtenus, que la résistance à la puissance bactericide de la caféine est inhérente à certaines espèces ou mieux à certaines variétés de bacilles d'Eberth.

Nous avons en effet remarqué que, sur nos échantillons, nous en avons six provenant trois du sang et trois des urines de trois malades ; les trois provenant du sang ne poussant pas, les trois provenant des urines, végétant parfaitement en milieu caféiné.

TABLEAU V

	Agglutination à 1 70	Agglutination à 1 100	Agglutination à 1 200	Agglutination à 1 500	culture en caboine après 24 heures
Labo...	++	++	—	++	—
E. S...	++	++	++	++	+
Bas...	++	++	++	+	+
Bon...	++	++	++	+	+
Cos...	++	++	++	+	+
Dum. S...	++	++	+	+	—
Mar... S.	++	++	+	±	—
Mas... S.	++	++	+	+	—
Dun. U...	++	++	+	—	+
Mar... U.	++	++	+	—	+
Mas... U.	++	±	—	—	+

++ Signifie agglutination complète.

+ — — positive avec quelques bacilles mobiles.

± — — douteuse ou faible.

— — — négative.

+ — — culture positive.

— — — négative.

TABLEAU VI

Échantillons.	Lait	Bouillon lactosé tournesolé.	Gélatine ordinaire.	Gélatine phéniquée.	Gélatine de Chantemesse.	Pommes de terre.	Milieu au Neutral-roth.	Agglutination.
Labo...; laboratoire.	Ne coagule pas.	Ne vire pas au rouge.	Culture peu abondante.	Culture très légère.	Colonies bleues.	Enduit léger.	Ne vire pas.	1/50
	Ne coagule pas.	Ne vire pas au rouge.	Culture peu abondante.	Culture très légère.	Colonies bleues.	Enduit léger.	Ne vire pas.	1/500
	Ne coagule pas.	Ne vire pas au rouge.	Culture peu abondante.	Culture très légère.	Colonies bleues.	Enduit léger.	Ne vire pas.	1/500
Mas... S...; sang de typhique.	Ne coagule pas.	Ne vire pas au rouge.	Culture peu abondante.	Culture très légère.	Colonies bleues.	Enduit léger.	Ne vire pas.	1/500
	Ne coagule pas.	Ne vire pas au rouge.	Culture peu abondante.	Culture très légère.	Colonies bleues.	Enduit léger.	Ne vire pas.	1/500
	Ne coagule pas.	Ne vire pas au rouge.	Culture peu abondante.	Culture très légère.	Colonies bleues.	Enduit léger.	Ne vire pas.	1/500
Coli R ² (témoin).	Coagule.	Vire au rouge.	Culture abondante.	Culture assez abondante.	Colonies rouges.	Culture très abondante.	Teinte dic-hroïque.	

Il nous reste évidemment à étudier, à rechercher si ces variétés peu résistantes se rapprochent des coli.

Pour ce faire, nous avons passé en revue chacun des échantillons étudiés qui n'ont pas poussé et recherché si, par certains côtés, ils pourraient être non pas assimilés mais rapprochés des coli et former une série ininterrompue rattachant les coli bacilles types aux bacilles d'Eberth également types.

Nous avons, dans ce but, ensemencé les quatre échantillons dans un certain nombre de milieux servant d'ordinaire à différencier les coli des Eberth. Nous ne nous sommes pas alors borné, comme cela avait été fait pour authentifier ces échantillons, à les cultiver en lait, bouillon lactosé, tournesolé et en gélatine ; nous avons également employé les milieux à base de Neutralroth, la gélatine de Chantemesse et la gélatine phéniquée ; le tableau suivant montre que tous ces Eberth se sont conduits comme des bacilles d'Eberth typiques, ne se rapprochant des coli que par leur faible résistance à la caféine. Ces échantillons sont cependant des bacilles d'Eberth d'une authenticité indiscutable ; leur agglutinabilité le démontre suffisamment.

Ces quelques expériences montrent que nos bacilles d'Eberth, si puissamment influencés par la caféine, ne ressemblent en rien au coli si ce n'est par ce point et, comme nous venons de le voir, ce sont bien des bacilles d'Eberth. Il faut donc, croyons-nous, admettre que certains échantillons de bacilles d'Eberth n'ont pas une résistance suffisante pour croître en caféine, tandis que la majorité, au contraire, résiste au pouvoir antiseptique de cette substance.

Ceci fait, il était intéressant de voir entre quelles limites pouvaient végéter nos divers échantillons de coli bacilles et de bacilles d'Eberth ; nous avons pour cela fait des bouillons contenant des doses différentes de caféine et, après vingt-quatre heures d'étuve, nous avons examiné coli bacilles et bacilles d'Eberth. Nous avons classé nos échantillons en suivant l'ordre de résistance qu'ils possèdent vis-à-vis de la caféine.

On voit d'après ce tableau, qui résume un certain nombre d'expériences sur l'influence de la caféine sur les bacilles d'Eberth et les coli bacilles, que celle-ci a une action très constante sur les coli bacilles tandis que les bacilles d'Eberth sont influencés de manière bien différente, on les trouve en effet aux deux extrémités du tableau indiquant leur limite de résistance.

En somme, si nous voulons résumer ce chapitre, nous dirons :

1° Tous les coli bacilles étudiés ne poussent pas en bouillon caféiné.

2° Certains bacilles d'Eberth poussent, d'autres ne poussent pas.

3° Donc, un bacille présentant les caractères de mobilité et l'aspect général du bacille d'Eberth et du coli bacille n'est certainement pas du coli bacille s'il pousse en milieu caféiné ; s'il n'y pousse pas, il n'est pas fatalement du coli bacille.

Cette méthode, non absolue, combinée à d'autres, peut rendre d'assez grands services pour différencier le coli bacille du bacille d'Eberth.

Nous aurions voulu étudier également l'influence de la théobromine et de l'acide urique sur les microbes

TABLEAU VII

ECHANTILLONS		Quantité de caféine ajoutée à un mélange de { Bouillon ordinaire. 35 cc. Eau 65 cc.										
		0*10	0*20	0*30	0*40	0*50	0*60	0*70	0*80	0*90	1*00	1*10
		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
EBERTH	Bas... ;	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
	Bon... ;	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
	Cos... ;	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
	Dum.. U.. ;	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Mar.. U.. ;	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
	Mas.. U.. ;	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
	E.. S.. ;	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Coli R ²	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—
	Coli 1. ;	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—
	Coli 2.. ;	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—
	Coli 3. ;	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Coli 4.. ;	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—
	Coli Lé.. ;	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—
	Coli Ma.. :	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—
	Coli R	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—
	Coli N	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—
EBERTH	Labo	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—
	Mar.. S.. ;	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
	Dum.. S.. ;	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
	Mas.. S.. ;	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

+ signifie culture positive
 — signifie culture négative

que nous avons soumis à l'action de la caféine. Cela nous a été impossible parce que ces sels sont excessivement peu solubles dans l'eau et, par conséquent, dans le bouillon ordinaire. Nous avons pensé, pour avoir des corps solubles dans l'eau, à employer non plus l'acide urique, mais des urates, non plus la théobromine, mais des sels de théobromine. Nous avons été obligé de renoncer à la méthode vu la grande facilité avec laquelle ces sels se décomposent en présence d'un grand excès d'eau.

Cependant l'étude de ces différents produits serait très intéressante, mais il faut trouver une technique : nous en poursuivons la recherche.

CHAPITRE IV

RECHERCHE DU BACILLE D'EBERTH DANS LES MATIÈRES FÉCALES DE TYPHIQUES. ESSAI DE DIAGNOSTIC DE LA FIÈVRE TYPHOÏDE

Lorsque l'article de E. Roth parut, nous avons eu l'idée de nous servir de la propriété de la caféine pour rechercher le bacille d'Eberth dans les selles des typhiques et procéder par ce moyen au diagnostic précoce de la fièvre typhoïde en obtenant des cultures pures de bacilles d'Eberth débarrassées de coli bacilles. Outre les avantages de la facilité du diagnostic, ce procédé aurait également eu une importance capitale au point de vue de la prophylaxie de la fièvre typhoïde. Par des recherches faites à quelques jours de distance, on aurait pu se rendre compte de la disparition du bacille d'Eberth dans les matières fécales et, par là, se rendre compte du moment où un ancien typhique ou un typhique en convalescence cessait d'être un danger public.

Pour cela, nous avons tout d'abord étudié la façon dont se comportaient en milieu caféiné les microbes des matières fécales provenant de personnes saines, atteintes d'affections chirurgicales ou autres, mais à l'exclusion d'affections gastro-intestinales, pouvant fausser les résultats.

Les matières fécales ainsi étudiées sont au nombre de onze se décomposant ainsi :

I. Matières fécales provenant d'une fillette atteinte d'une arthrite tuberculeuse du genou. Ces matières désignées sous le signe de F. 1.

II. Matières fécales provenant d'une fillette atteinte d'une arthrite tuberculeuse de la hanche. F. 2.

III. Matières fécales provenant d'une fillette atteinte d'une arthrite tuberculeuse au coude. F. 3.

IV. Matières fécales provenant d'une fillette atteinte d'une arthrite tuberculeuse du genou. F. 4.

V. Matières fécales provenant d'un homme âgé, atteint de néphrite interstitielle. F. néph.

VI. Matières fécales provenant d'un vieux bacillaire. F. Bac.

VII. Matières fécales provenant d'un vieux bronchitique. F. Bronch.

VIII. Matières fécales provenant d'un jeune homme atteint de fracture du bras. F. Frac.

IX. Matières fécales d'homme normal. F. P.

X. Matières fécales d'homme normal. F. Le...

XI. Matières fécales d'homme normal. F. Ma...

Les matières fécales ci-dessus énumérées ont étéensemencées dans le bouillon caféiné ordinaire. En même temps, et pour servir de témoin, les mêmes matières étaientensemencées en bouillon ordinaire dilué dont nous avons déjà parlé à propos d'autres expériences. Celles-ci, en bouillon ordinaire dilué, ont toujours poussé vingt-quatre heures après l'ensemencement, et on verra, dans la suite de ce chapitre, que leur flore microbienne différerait assez de celle des cultures en milieu caféiné, celles-ci étaient toutes troubles ou peu s'en faut, au plus tard quarante-huit heures après l'ensemencement.

cement ; quelquefois même, après la première période de vingt-quatre heures un léger trouble commençait à se manifester. Quelques jours après, le trouble allait augmentant et un dépôt se formait au fond du ballon de culture laissant au-dessus de lui un liquide légèrement trouble. Au microscope, l'examen était pratiqué vingt-quatre ou quarante-huit heures après l'ensemencement, et ceci dépendant de la rapidité de la croissance de la culture, on observait généralement ce qui suit. Nous prenons comme type de notre description ce que nous avons vu dans le cas des matières fécales *F. Bac* : c'est en effet un des cas qui nous a paru un des plus typiques.

Au bout de vingt-quatre heures la culture est légèrement trouble, mais assez cependant pour permettre un examen microscopique qui, pratiqué à ce moment, nous a donné une culture assez abondante contenant des streptocoques à douze ou quinze éléments, quelques diplocoques ou chaînettes de trois ou quatre éléments. Outre ces streptocoques, qui forment le fond de la préparation, on aperçoit çà et là dans le champ du microscope quelques gros bacilles en très petit nombre à extrémité arrondie qui ne sont certainement pas des coli.

Les streptocoques prennent le Gram, les gros bacilles sont décolorés par cette méthode. Malgré cette décoloration, nous sommes en droit d'affirmer que ces gros bacilles ne sont pas des coli, et ceci parce que, en examinant la culture faite en bouillon dilué, nous avons vu, outre de nombreux bacilles fins très mobiles, que nul ne pouvait considérer comme autre chose que des coli, de gros bacilles semblables comme

aspect et comme allure aux gros bacilles signalés dans le bouillon caféiné.

A côté de ces rares gros bacilles et de la multitude de coli qui forment la majeure partie de la préparation, on aperçoit quelques rares streptocoques disséminés dans le champ du microscope.

Les jours suivants, l'aspect général de la culture s'est accentué en milieu caféiné, les streptocoques devenant de plus en plus nombreux, les gros bacilles d'isolés qu'ils étaient semblent avoir une tendance à se grouper par deux en diplobacilles ou même en streptobacilles, formant des chaînettes d'un petit nombre d'éléments.

Ce qui est à remarquer, ce qui, une fois de plus, donne raison à E. Roth, en ce qui concerne le coli, c'est l'absence toujours absolue de coli même, huit ou dix jours après l'ensemencement.

Nous n'entrerons pas dans le détail de la façon dont se sont comportés les divers échantillons de matières fécales étudiés ; ce serait nous condamner à une répétition fastidieuse : les résultats que nous avons obtenus ont été en effet d'une telle constance que, à part un cas, où nous n'avons pas trouvé de streptocoques et six cas où les gros bacilles faisaient défaut, nous pourrions répéter identiquement ce que nous venons d'écrire.

Cette abondance de streptocoques, par rapport au petit nombre de gros bacilles faisant même défaut dans un certain nombre de cas, nous avait fait espérer de pouvoir isoler les streptocoques par réensemencements successifs en milieu caféiné.

Notre espoir a été pleinement justifié par la pratique, et, après un nombre relativement restreint de réensemencements, nous nous sommes trouvé en possession de cultures de streptocoques qui, ensemencées en bouillon ordinaire, se sont développées absolument exemptes de gros bacilles ou de coli qui, en trop petit nombre pour être visibles au microscope, auraient pu suffire à reproduire une culture une fois dans un milieu qui leur convenait mieux que le bouillon caféiné.

Dans le tableau ci-après, nous réunissons les résultats que nous avons obtenus avec les matières fécales, provenant de non typhiques; nous abandonnons momentanément l'étude des streptocoques, pour la reprendre lorsque nous aurons vu comment se comportent les matières fécales de typhiques en présence de la caféine.

Les résultats obtenus avec les matières fécales normales nous permettaient d'affirmer que le coli ne nous générail en aucune façon, puisque dans aucun des cas étudiés, nous n'avons vu ce microorganisme végéter dans le milieu caféiné; aussi, avons-nous essayé de chercher par ce procédé, à extraire des selles de typhiques le bacille d'Eberth.

Quelques mots tout d'abord sur l'origine de celles-ci.

F. Mar... — Matières fécales provenant de Mar..., dont l'histoire a été donnée dans un chapitre précédent (observation due à M. le professeur S. Courmont).

F. All... — Histoire clinique très résumée. All..., femme de trente ans. Entrée au 8^e jour de sa maladie. Prostration, céphalée.

TABLEAU VIII

Matières fécales	Jours au bout desquels la culture a poussé	Streptocoques	Gros bacilles	Coli bacilles	Génération à laquelle le streptocoque a été pur
F... 2 Arthr. tub.		o	o	o	o
F... 1 Arthr. tub.	2	+	o	o	5 ^e
F... 3 Arthr. tub.	2	+	+	o	6 ^e
F... 4 Arthr. tub.	2	+	+	o	5 ^e
F. Neph...	1	+	+	o	3 ^e
F. Bac ..	2	+	+	o	3 ^e
F. Bronch...	1	+	+	o	5 ^e
F. Fract...	1	+	o	o	4 ^e
F. Pa...	1	+	o	o	4 ^e
F. Lé...	2	+	o	o	3 ^e
F. Ma...	2	+	o	o	4 ^e

langue saburrale, abdomen distendu, douloureux. Quelques taches suspectes.

Au 10^e jour, séro-réaction, positive à 1/30, douteuse à 1/50 (observation due à l'obligeance de MM. Roque et Pallasse).

F. Gle... — Histoire clinique très résumée. Gle., , femme de vingt et un ans. Entre au 8^e jour de sa maladie.

Céphalée, pas de prostration, langue saburrale, abdomen non douloureux, gargouillement à droite. Grosse rate.

Au 12^e jour, séro-réaction positive à 1/10 (observation due à l'obligeance de MM. Roque et Pallasse).

F. Arb... — Histoire clinique très résumée. Arb...; jeune fille de dix-sept ans. Entre au 10^e jour de la maladie. Céphalée, diarrhée, douleurs abdominales, prostration, langue saburrale, grosse rate.

Au 14^e jour séro-réaction à 1/30 (Observation due à l'obligeance de MM. Roque et Palasse).

F. Por... — Histoire clinique très résumée. Por..., homme de trente ans. Entre au 15^e jour de la maladie. Céphalée, courbature, symptômes abdominaux assez vagues, constipation. Grosse rate.

Langue saburrale. Un peu d'albumine.

Séro-réaction toujours négative, même à 1/10.

Le malade meurt au 21^e jour de sa maladie d'une perforation retrouvée à l'autopsie.

(Observation due à l'obligeance de MM. P. Courmont et Revol.)

F. Fav... — Histoire clinique très résumée. Fav..., homme de vingt-quatre ans.

Début le 16 octobre. Entré à l'hôpital le 6 novembre 1903. Quelques taches rosées.

En somme, fièvre typhoïde typique avec seulement un cœur faible à surveiller.

Séro-diagnostic.

9 novembre 1903. — Positif à $1/2500$.

14 novembre 1903. — Positif à $1/1000$, négatif à $1/2000$.

21 novembre 1903. — Positif à $1/100$.

(Observation due à l'obligeance de MM. P. Courmont et Revol).

F. X... — L'observation a été égarée, mais nos souvenirs personnels nous permettent d'affirmer que nous avons affaire à une fièvre typhoïde typique, quoique à séro-réaction négative.

F. Mol... — Histoire clinique très résumée. Mol., homme de vingt-deux ans. Entre au 5^e jour de sa maladie. Céphalalgie, langue saburrale, constipation. Abdomen non douloureux.

Séro-réaction et culture du sang toujours négative quoique ébauche de séro-réaction à $1/10$ et $1/30$ en une heure et demie.

Nous avons pour les matières fécales de typhiques procédé exactement comme pour les matières fécales normales. Dans tous les cas, les ballons témoins ont été troubles au bout de vingt-quatre heures et les ballons contenant le milieu caféiné, se sont comportés d'une manière tellement analogue à celle dont se sont comportés les mêmes ballonsensemencés avec des matières normales, que nous ne croyons pas qu'il soit nécessaire d'entrer dans le détail.

Disons cependant dès maintenant que, dans aucun cas, nous n'avons trouvé ni coli, ni Eberth, dans les milieux caféinés.

Nous résumons dans le tableau ci-dessous les résultats obtenus.

Les résultats ci-dessus énoncés, confirment les résultats obtenus, à savoir que le coli ne pousse pas en milieu caféiné. Ils montrent de plus que le *bacille*

TABLEAU IX

Matières fécales	Séro-réaction	Jour de la maladie où les cultures ont été faites	Jours au bout desquels la culture a poussé	Streptocoques	Gros bacilles	Coli bacilles	Eberth	Génération à laquelle le streptocoque a été pur
F. Mar...; typhique	$+\frac{1}{30}$; $\pm\frac{1}{50}$	13 ^e	1	+	+	0	0	4 ^e
F. All...; typhique	$+\frac{1}{30}$; $\pm\frac{1}{50}$	10 ^e	1	+	+	0	0	4 ^e
F. Gle...; typhique	$+\frac{1}{10}$	12 ^e	1	+	0	0	0	4 ^e
F. Arb...; typhique	$+\frac{1}{30}$	14 ^e	1	+	0	0	0	4 ^e
F. Por... typhique	Négative	15 ^e	2	+	+	0	0	3 ^e
F. Fav... typhique	$+\frac{1}{2500}$	16 ^e	2	+	+	0	0	3 ^e
F. X... typhique	Négative	11 ^e	1	+	0	0	0	5 ^e
F. Mol... ancien typhique	Négative	12 ^e		0	0	0	0	

d'Eberth ne peut être décelé dans les matières fécales en se servant de ce procédé.

On sait cependant que les matières fécales des typhiques contiennent des bacilles d'Eberth (ceux-ci ont été souvent isolés par des méthodes connues, mais longues) ; comment se fait-il que nous n'en ayons jamais obtenu ? Ceci est le fait qui nous échappe et dont nous ne pouvons donner la cause.

CHAPITRE V

LES STREPTOCOQUES INTESTINAUX

Mais si l'Eberth échappe ainsi à nos recherches, il n'en est pas de même des streptocoques qui, très fréquents dans les matières fécales, sont encore peu connus ; la caféine se trouve même un excellent moyen de les isoler en se débarrassant de la plus grande partie de la flore intestinale.

Si nous bloquons les résultats obtenus avec les matières fécales, nous voyons que sur dix-neuf échantillons de matières fécales

17 contenaient du streptocoque, c'est-à-dire 89 o/o ;

2 n'en contenaient pas, c'est-à-dire 11 o/o.

Il nous reste maintenant un point très intéressant à étudier : c'est la nature des streptocoques trouvés dans les matières fécales. Quels sont-ils ? Sont-ils les mêmes que ceux de l'érysipèle ? Sont-ils simplement saprophytes ? L'essai de la solution de ces deux questions fera l'objet de ce chapitre.

Nous désignerons tous nos streptocoques de la même façon que les matières fécales dont ils ont été extraits en remplaçant toutefois la lettre F par la lettre S.

La première expérience faite sur les streptocoques isolés a été de rechercher leurs caractères de culture

TABLEAU X

STREPTOCOQUES	LAIT	BOUILLON TOURNESOL	GÉLATINE	Pouvoir pathogène vis-à-vis du lapin	GRAM.
S... 1.. Arthr. tub.	Coagulé	Vire au rouge	Non liquéfiée	Nul	Prend le Gram.
S... 3.. Arthr. tub.	Coagulé	Id.	Non liquéfiée	Nul	Id.
S... 4.. Arthr. tub.	Coagulé	Id.	Non liquéfiée	Nul	Id.
S... Neph...	Coagulé	Id.	Non liquéfiée	Nul	Id.
S .. Bac...	Coagulé	Id.	Non liquéfiée	Non essayé	Id.
S... Bronch.	Coagulé	Id.	Non liquéfiée	Nul	Id.
S... Frac...	Coagulé	Id.	Non liquéfiée	Non essayé	Id.
S... Pa..	Coagulé	Id.	Non liquéfiée	Non essayé	Id.
S... Lé...	Coagulé	Id.	Non liquéfiée	Nul	Id.
S... Ma...	Coagulé	Id.	Non liquéfiée	Nul	Id.
S... Mar. typhique.	Coagulé	Id.	Non liquéfiée	Nul	Id.
S... All. typhique.	Coagulé	Id.	Non liquéfiée	Non essayé	Id.
S... Gle typhique.	Coagulé	Id.	Non liquéfiée	Non essayé	Id.
S... Arb. typhique.	Coagulé	Id.	Non liquéfiée	Nul	Id.
S .. Por... typhique.	Coagulé	Id.	Non liquéfiée	Non essayé	Id.
S... Fav... typhique	Coagulé	Id.	Non liquéfiée	Nul	Id.
S... X... typhique	Coagulé	Id.	Non liquéfiée	Nul	Id.
S... Bez...	Coagulé	Id.	Non liquéfiée	tue le lapin en 24 heures	Id.

en différents milieux et d'essayer leur pouvoir pathogène vis-à-vis du lapin et ceci en soumettant aux mêmes conditions expérimentales, un streptocoque pyogène virulent que M. le Dr Bezançon avait eu l'obligeance de nous envoyer (*S. Bez.*)

Aussitôt la première culture pure en bouillon ordinaire obtenue, nous avonsensemencé nos divers streptocoques en lait, bouillon tournesolé, gélatine, et nous les avons inoculés à des lapins à la dose de 4 centimètres cubes, nous avons de plus examiné leur attitude vis-à-vis la coloration par la méthode de Gram. Les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

Que conclure de ces résultats ? Sommes-nous en présence de streptocoques pyogènes ayant perdu leur pouvoir pathogène par suite de leur séjour dans l'intestin ou par suite d'une série de cultures en milieu caféiné ? Ces streptocoques sont-ils au contraire des streptocoques banaux, essentiellement non pathogènes ?

Deux méthodes pouvaient nous servir pour essayer de résoudre ce problème. Nous pouvions tout d'abord essayer de rendre à ces streptocoques leur virulence primitive si elle avait jamais existé. L'autre procédé consistait à voir si du streptocoque hypervirulent comme celui de M. Bezançon pourrait, par suite d'une série de cultures en caféine, perdre son pouvoir pathogène.

Telles sont les deux séries d'expériences que nous avons entreprises.

Nous n'avons pas, cela se comprendra facilement, essayé de rendre tous nos streptocoques virulents ;

nous avons reculé devant ce travail qui aurait été trop considérable vu le peu de temps dont nous disposions ; nous en avons choisi au hasard un certain nombre, ce sont :

S . . . 1 ; S . . . 3 ; S . . . 4.

La méthode qui nous a paru la plus judicieuse et la plus propre à rendre à nos streptocoques une virulence qu'ils avaient peut-être eue est celle consistant à faire une série de cultures en milieu de Marmorech composé de

Liquide d'ascite.	2
Eau salée peptonée.	1
Sang de lapin.	3

Malgré une série de cultures faites en ce milieu et des inoculations à hautes doses (5 c.) dans le sang de l'oreille de lapins, nous n'avons pu arriver à leur donner ou à leur rendre le pouvoir de tuer le lapin.

Pour diminuer au contraire la virulence de *S.-Bez.*, nous avons soumis ce streptocoque à l'épreuve inverse, c'est-à-dire que nous l'avons cultivé en milieu caféiné et, après cinq passages, nous l'avons inoculé au lapin, à la dose de 4 centimètres cubes.

Cette inoculation à dose massive n'a donné aucun résultat, le lapin n'a eu ni réaction générale, ni réaction locale, le streptocoque virulent avait complètement perdu son pouvoir pathogène. Il faut ajouter cependant que cinq passages en bouillon ordinaire ont eu le même résultat.

Que conclure des faits exposés ? Les streptocoques des matières fécales sont-ils pathogènes ?

Dans l'état actuel de la science, après les expériences que nous avons faites, nous croyons devoir nous tenir sur une prudente réserve ; la seule preuve nous permettant, en effet, d'affirmer leur virulence serait celle qui nous serait fournie par une inoculation tuant le lapin. Or cette preuve nous manque. Nous posons donc la question, réservant à une autre série d'expériences le soin de donner une preuve décisive, si possible.

CHAPITRE VI

INFLUENCE DE LA CAFÉINE SUR QUELQUES MICROBES AUTRES QUE LE B. D'EBERTH LE COLI B. ET LES STREPTOCOQUES.

La caféine, ce fait est indiscutable d'après les expériences ci-dessus exposées, possède des propriétés antiseptiques assez marquées, vis-à-vis du bacille d'Eberth, du coli bacille et des streptocoques puisque 1 pour 100 de caféine, ajouté au bouillon dilué à 35 pour 100 arrête toute végétation du coli bacille et ralentit celle du bacille d'Eberth et des streptocoques.

Il nous a paru intéressant d'étudier rapidement son action sur quelques autres microbes de laboratoire. Parmi ceux-ci, nous avons pris comme échantillons d'étude cinq espèces pathogènes (*Charbon*, *Diphtérie humaine*, *Diphtérie aviaire*, *Staphylocoque doré*, *Pyocyanique*) et huit espèces saprophytes (*Micrococcus prodigiosus*, *Sarcina rosea*, *Sarcina erythromyxa*, *Sarcina mobilis*, *Bacillus subtilis*, *Mesentericus niger*, *Bacillus anthracoïdes*, *Micrococcus cremoïdes*).

Nous avons pour ces micro-organismes procédé comme pour les bacilles d'Eberth et coli bacilles.

Nous donnerons pour chacun d'eux, en quelques lignes, le résultat de nos observations.

Bacille du charbon. — Assez sensible à l'action

de la caféine, ce bacille ne résiste pas à une concentration de plus de 0 gr. 70 pour 100 de caféine. Jusqu'à cette dose, il végète assez bien, en flocons comme dans le bouillon ordinaire.

Bacille de la diphtérie humaine. — Assez résistant, ce bacille pousse malgré une concentration de 1 pour 100 de caféine, mais il lui faut quarante-huit heures d'étuve pour avoir un trouble bien appréciable. L'étude que nous avons commencée de la toxine diphtérique en présence de la caféine n'est pas assez avancée pour en donner encore les résultats.

Bacille de la diphtérie aviaire. — Ce bacille se comporte exactement comme le précédent, aussi nous n'insisterons pas.

Staphylocoque doré. — Le staphylocoque doré est avec le bacille pyocyanique le microbe le plus résistant à la caféine que nous ayons rencontré.

Dans le bouillon ordinaire dilué, saturé de caféine, ce microbe a continué à se développer abondamment. Il fournit, à la dose de 1 pour 100 de caféine, des cultures très abondantes en vingt-quatre heures, cultures presque aussi abondantes qu'en simple bouillon dilué.

Bacille pyocyanique. — Ce bacille également résistant à l'influence de la caféine, ne cesse même pas sa végétation lorsque l'on atteint la saturation du milieu par la caféine. Si sa végétation ne paraît pas pas souffrir de la présence de la caféine, son pouvoir chromogène paraît au contraire manifestement amoin-

dri ; à peine au bout de deux ou trois jours voit-on une très légère teinte verdâtre colorer le bouillon qui, même après plus d'une semaine, n'acquiert pas la belle coloration verte des cultures ordinaires de pyocyanique. La caféine ne paraît pas avoir d'influence sur la mobilité de ce microorganisme.

Micrococcus prodigiosus. — Ce microbe ne résiste pas à une concentration de plus de 60 centigrammes de caféine pour 100. Il perd totalement son pouvoir chromogène en bouillon, tout au moins l'échantillon que nous avons en notre possession, le prodigiosus est tellement peu constant comme pouvoir chromogène que nous ne voulons pas généraliser.

Sarcina rosea. — Cette sarcine conserve son pouvoir chromogène et sa faculté de végétation jusqu'à une concentration de 1 pour 100 ; passé cette dose, cette sarcine ne pousse plus.

Sarcina mobilis. — Comme la précédente, cette espèce microbienne résiste à 1 pour 100 de caféine dans les milieux nutritifs.

Bacillus subtilis. — Résistant à la dose de 1 pour 100 de caféine, ce bacille pousse comme en bouillon ordinaire en voile épais à la surface du milieu nutritif et forme un feutrage assez serré.

Mesentericus niger. — Comme les espèces précédentes, ce microbe pousse jusqu'à une concentration de 1 pour 100 de caféine.

Bacillus anthracoides. — 80 centigrammes pour

100 de caféine suffisent à arrêter complètement la végétation de ce microbe dont la résistance ne dépasse pas 70 centigrammes pour 100.

Micrococcus cremoides. — Assez résistant, ce microcoque pousse avec son aspect ordinaire, gluant et épais jusqu'à la dose de 1 pour 100 de caféine ; passé cette dose, sa végétation cesse complètement.

Arrivés au terme de notre travail, nous avons cru bon de réunir en un seul tableau les résultats obtenus quant à la puissance antiseptique de la caféine sur les cinquante et un échantillons de microbes que nous avons étudiés.

Cette vue d'ensemble montre que les variations de résistance sont considérables, puisque nous avons au bas de l'échelle deux échantillons ne résistant pas à 20 centigrammes pour 100 de caféine, tandis qu'au sommet, deux échantillons arrivent à résister même lorsque le milieu est saturé de caféine.

CONCLUSIONS

Roth ayant affirmé que « par addition d'une certaine quantité de caféine à des milieux de culture déterminés on réussit à empêcher la croissance et même la possibilité de vivre du coli bacille pendant que le bacille d'Eberth, n'est pas ou peu influencé », nous avons repris ses expériences et voici nos conclusions :

I. Avec Roth, nous n'avons pas rencontré de coli bacille poussant en milieu caféiné.

II. Mais, en ce qui concerne le bacille d'Eberth, nous ne pouvons complètement confirmer les conclusions de Roth. Si, en effet, la majeure partie des échantillons de bacilles d'Eberth peut, comme il l'a dit, végéter dans les milieux caféinés, par contre, il en existe d'autres qui ne végétent pas dans les milieux caféinés et se comportent comme des coli bacilles.

III. Ce fait est, néanmoins, très intéressant, car c'est la première fois qu'on rencontre une substance (la caféine) qui rende les milieux inaptes à cultiver le coli bacille tout en laissant pousser le bacille d'Eberth (ou mieux certains bacilles d'Eberth).

IV. Nous avons appliqué ce procédé à l'isolement des microbes des matières fécales. Comme il fallait s'y attendre, ces cultures n'ont jamais donné de coli bacille.

Dans 89 pour 100 des matières fécales normales ou pathologiques, on peut ainsi obtenir des streptocoques à l'état de pureté. C'est donc là un excellent moyen et tout nouveau d'étudier les streptococcies intestinales.

V. Les streptocoques des selles qui végètent dans les milieux caféinés ne peuvent être dans l'état actuel de la question identifiés d'une façon certaine à l'espèce : *streptocoque pyogène*.

VI. *Au point de vue de la fièvre typhoïde*, contrairement à notre attente, nous n'avons pu utiliser ce procédé pour faire un diagnostic bactériologique en obtenant avec des selles de typhiques des cultures de bacilles d'Eberth privées de coli bacilles.

La question de savoir pourquoi les bacilles d'Eberth des selles appartiennent toujours à la catégorie des bacilles d'Eberth qui ne végètent pas en milieu caféiné est assez obscur, vu que chez certains malades le bacille d'Eberth des urines végétait en milieu caféiné, alors que leurs selles donnaient des cultures négatives. *En somme, le procédé de Roth n'a pas d'importance pratique au point de vue du diagnostic de la fièvre typhoïde par la culture des selles.*

VII. Nous avons étudié un certain nombre de microbes au point de vue de leur façon de se comporter vis-à-vis de la caféine. Aucun, sauf le staphylocoque

pyogène et le pyocyanique ne peuvent végéter lorsque la dose de caféine dépasse 1 pour 100 et que le milieu nutritif est composé de bouillon dilué avec 65 d'eau pour 100.

Vu :

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE

COURMONT (J.)

LE DOYEN,
LORTET.

Vu et permis d'imprimer :

Lyon, le 26 janvier 1904.

LE RECTEUR, PRÉSIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ

GABRIEL COMPAYRÉ

TABLE DES MATIÈRES

PRÉFACE	5
HISTORIQUE	7
CHAPITRE PREMIER. — Aperçu sur la caféine et les corps voisins au point de vue chimique	13
Préparation	14
I. Procédé Robiquet et Boultron	14
II. Procédé Versmann	15
III. Procédé Vogel	15
IV. Procédé Payen	15
V. Procédé Legrip et Petit	16
VI. Procédé Cazeneuve	16
VII. Procédé Grosschopf	17
Propriétés physiques	17
Propriétés chimiques et Constitution	18
CHAPITRE II — Technique	22
CHAPITRE III. — Influence de la caféine sur les cultures pures de bacille d'Eberth et de coli bacille	25
Origine de nos bacilles	26
I. Bacilles d'Eberth	26
II. Coli bacilles	29
B: Nos résultats	30
CHAPITRE IV. — Recherche du bacille d'Eberth dans les matières fécales de typhiques. Essai de diagnostic de la fièvre typhoïde	36
CHAPITRE V. — Les streptocoques intestinaux	44
CHAPITRE VI. — Influence de la caféine sur quelques microbes autres que le B. d'Eberth, le Coli B. et les strepto- coques	48
CONCLUSIONS	53

